Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin

Heterogenität des "Thyreoidea stimulierenden Hormons"

(Untersuchungen zur Pathogenese der Endokrinen Ophthalmopathie)

Inaugural-Dissertation

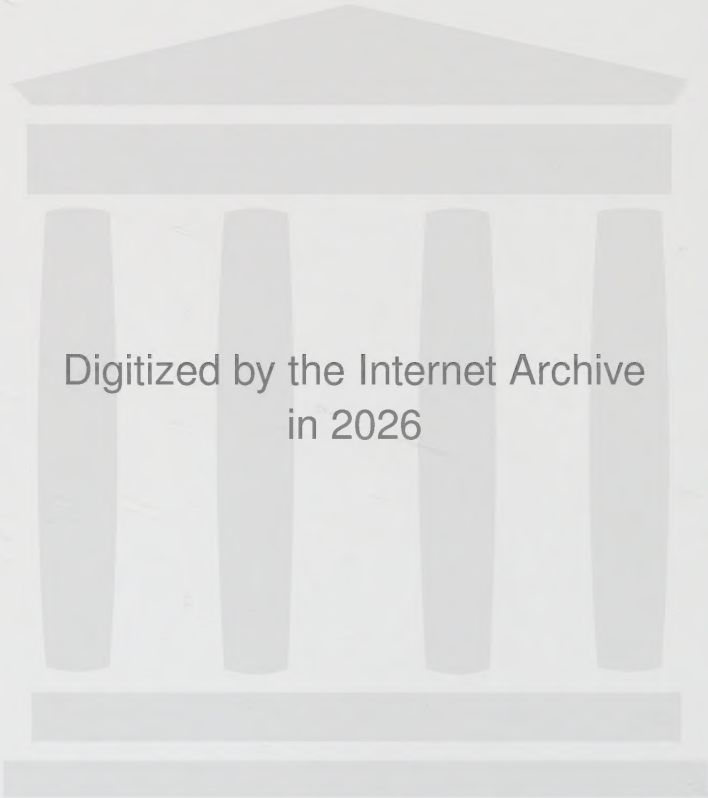
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Harald Jürgens

Litzmannstadt

1973


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552709_0022

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin

Heterogenität des "Thyreoidea stimulierenden Hormons"

(Untersuchungen zur Pathogenese der Endokrinen Ophthalmopathie)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Harald Jürgens

Litzmannstadt

Referent: Professor Dr. SCHLEUSENER

Korreferent: Professor Dr. FREYSCHMIDT

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am : 19. Dezember 1973

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	MATERIAL und METHODEN	3
III.	ERGEBNISSE	9
IV.	DISKUSSION und ZUSAMMENFASSUNG	25
V.	SCHRIFTTUM	3o

I. Einleitung

Die Ätiologie und Pathogenese der endokrinen Ophthalmopathie ist ungeklärt :

1970 beschrieben Liao et al. (31) eine Heterogenität der biologischen TSH Aktivität, 1970/71 Winand und Kohn (49/50) eine Heterogenität von TSH und EPF Aktivität aus Rinderhypophysenextrakten. Als Methoden wurden das Gegenstromverteilungssystem und die Disc-Elektrophorese gewählt.

Eine Trennung beider biologischen Aktivitäten scheint also extrem schwierig zu sein.

Eine der ältesten Theorien über die Pathogenese der endokrinen Ophthalmopathie besagt jedoch, daß ein vom TSH unterschiedlicher exophthalmogener Faktor (EPF) der Hypophyse verantwortlich für die Pathogenese der Ophthalmopathie sei :

Mehrere Arbeitsgruppen berichteten über die partielle Isolierung einer exophthalmogenen Aktivität aus Rinder-TSH-Extrakten (6/10/21). Dieser "EPF" soll mit der von Dobyns und Wilson 1954 im Serum von Patienten mit endokriner Ophthalmopathie beschriebenen exophthalmogenen Aktivität identisch und Ursache der für diese Krankheit typischen Veränderungen im Retrobulbärraum und in den Augenmuskeln sein (4/11/48). In den letzten Jahren haben jedoch verschiedene Arbeitsgruppen darüber berichtet, daß es ihnen nicht gelang die thyreotrope und exophthalmogene Aktivität des Hypophysenvorderlappens zu trennen (8/50). Die Möglichkeit einer solchen Trennung von thyreotroper und exophthalmogener Aktivität ist jedoch die Basis für die Theorie von der hypophysären Genese dieses Symptoms, da bei Patienten mit endokriner Ophthalmopathie die TSH und EPF Aktivität im Serum in keiner Beziehung zueinander stehen, und bei hyperthyreoten Patienten auch mit schwerer Ophthalmopathie die TSH Aktivität nicht meßbar ist (17).

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe der elektrofokusierenden Elektrophorese versucht:

1) eine Heterogenität auch der radioimmunologisch meßbaren thyreotropen Aktivität bei Menschen nachzuweisen (anfangs wurde ein Teil der radioimmunologischen TSH Bestimmung von Herrn Priv.Doz.Dr. von zur Mühlen, Med. Universitätsklinik Göttingen, durchgeführt) und
2) eine Trennung der thyreotropen, exophthalmogenen und lipolytischen Aktivität von TSH zu erreichen.

Die Untersuchungen der lipolytischen und exophthalmogenen Aktivität wurden von Dr. Loos, Dr. Rothenbuchner und Dr. Faulhaber von der Universitätsklinik Ulm durchgeführt und werden lediglich in der Diskussion durchgesprochen.

II. Material und Methoden

A) Untersuchungen zur Heterogenität der TSH Aktivität des Menschen

1) Untersuchungsmaterial:

4 gesunden Normalpersonen wurden vor und (8 Tage später) 3o Minuten nach der intravenösen Injektion von 5oo µg TRH je 5oo ml Blut entnommen und die TSH-Aktivität aus dem Plasma extrahiert. Außerdem wurden zur TSH Bestimmung im Nativserum unmittelbar vor und 1o, 2o, 3o und 4o Minuten nach Injektion je 1o ml Blut entnommen.

2) TSH-Extraktion:

Aus dem Plasma wurde die TSH Aktivität nach der von Adams und Kennedy angegebenen Methode extrahiert (1). (s. Abb. 1)

3) Elektrofokusierende Elektrophorese:

1oo mg Protein des TSH-Extraktes wurden in einer elektrofokusierenden Säule (LKB 81o2) fraktioniert.

a) Prinzip: (36, 42, 43, 44, 46, 47)

Mit dieser Methode ist eine Trennung von Eiweißmolekülen nach ihrem isoelektrischen Punkt möglich. Durch niedrigmolekulare Trägerampholyte (Ampholine LKB Stockholm) wird in einer wässrigen Lösung beim Anlegen einer elektrischen Spannung in einem vorgegebenen Bereich ein pH Gradient aufgebaut. Ein Sucrose - gradient dient zur Stabilisierung und verhindert die Wärmekonvektion. Die Fokusierung der Proteine findet an ihren Isoelektrischen Punkten statt. Nach der Auftrennung der Proteine wird der Säuleninhalt eluiert. Da die Ampholine-Moleküle eine sehr geringe Eigenextinktion besitzen, nehmen sie keinen Einfluß auf das Elutionsdiagramm. Ihr Molekulargewicht liegt unter 1 ooo und sie können leicht durch Dialyse aus dem Eluat entfernt werden.

b) Durchführung eines Versuches:

1oo mg TSH-Extrakt wurden in eine 1-%-Ampholinelösung mit dem pH Bereich 3,o - 1o,o in einer Elektrofokusiersäule von 42o ml Gesamtvolumen fraktioniert. Um die Elektroden vor Oxidation bzw. Reduktion zu schützen, wurde als Anodenlösung 1%ige Phosphorsäure und als Kathodenlösung 1%ige Natronlauge verwandt. Wird jetzt eine Spannung von 4oo - 6oo V, bei der eine Leistung von 6 Watt nicht überschritten werden darf, angelegt, so wird von den Ampholine-Trägerampholyten ein pH Gradient von 3,o - 1o,o aufgebaut.

Die Proteine in der Probe wandern schließlich zu dem Punkt, bei dem die Nettoladung gleich Null ist, d.h. also pH = P I. Die Temperatur in der Säule wurde konstant auf + 4° C gehalten. Die Trennung ist nach 72 Std. beendet. Der Säuleninhalt wird mit einer Geschwindigkeit von 4o ml/h eluiert und nach gleichzeitiger Messung von pH und Extinktion (28o nm) in 5 ml Portionen aufgefangen.

Der Dichtegradient verhindert dabei ein Vermischen der fokusierten Zonen und eine Wärmekonvektion. (s. Abb. 2)

4) Sephadex-Gelfiltration:

Außerdem wurden die TSH Extrakte in Sephadex-G-1oo mit einem Fraktionierbereich von 4 ooo bis 15o ooo fraktioniert. (s. Abb. 6/7)

5) Radioimmunologische TSH-Bestimmung:

Die TSH Aktivität im menschlichen Plasma, in den Gesamt-Extrakten und in den TSH-Fraktionen wurden im Labor von Herrn Priv.Doz.Dr. von zur Mühlen (Med. Universitätsklinik Göttingen) bestimmt:
Der Versuch wurde unter Verwendung von hochgereinigtem HTSH und Anti-HTSH in National Pituitary Agency des NTH (USA) gemessen. Als Standard diente der Human Thyreotropin Reference Standard A der NIMR (London). Die Markierung des HTSH erfolgte nach der von Greenwood und Hunter beschriebenen Methode (14). Die Inkubation dauerte insgesamt 5 Tage. Nach 1 Tag Präinkubation wurde das markierte HTSH hinzugefügt, nach weiteren Tagen der 2. Antikörper hinzugegeben, um die Trennung von freiem und gebundenem HTSH zu erreichen (Doppelantikörpertechnik).
Der Normalbereich betrug <1,5 - 6,5 µU/ml Serum, der Variationskoeffizient gleicher Proben in demselben Ansatz betrug 7 %, der Variationskoeffizient zwischen verschiedenen Ansätzen 15 %.
Die TSH Aktivität aller von einer Versuchsperson stammenden Proben wurden in einem Versuchsansatz bestimmt.

B) Untersuchungen zur Heterogenität der TSH Aktivität aus Rinderhypophysen:

1) Als Hypophysen-TSH-Extrakt von Rindern wurde Thyreostimulin (Organon, München) verwandt.

Um ein möglichst homogenes Ausgangssubstrat zu gewinnen, wurden 1o Ampullen = 3oo I E des TSH-Extraktes gemischt, gegen Wasser dialysiert und anschließend lyophilisiert.

2) Die TSH-Extrakte vom Rind wurden in gleicher Weise wie die TSH-Extrakte aus menschlichem Plasma in der elektrofokusierenden Säule fraktioniert. (s. Abb. 1)

3) Die biologische Messung der TSH-Aktivität aus den Hypophysenextrakten und ihren Fraktionen erfolgte mit dem McKenzie-Versuch (22).

Prinzip:

Der Versuch beruht auf der Stimulation der Schilddrüsenhormonsekretion durch Injektion von TSH bei Mäusen. In Abhängigkeit von der Dosis kommt es im Serum der Tiere zu einem Anstieg des Schilddrüsen-Hormonspiegels.

Durchführung:

Je fünf weibliche Mäuse eines Inzuchtstammes (C F 1) wurden 2 Wochen vor Versuchsbeginn unter konstanten Raum-, Licht- und Temperaturverhältnissen gehalten. Sie erhielten:

a) eine Woche lang jodfreie Diät (Altromin GmbH) und Leitungswasser ad libidum
b) zur Blockade der endogenen Thyreotropinaktivität am achten, neunten und zehnten Diättag je 1o y Na-L-Thyroxin subkutan (Fa. Schuchardt, München)
c) am achten Tag 5 Stunden vor der ersten Thyroxin-Gabe eine Applikation von 15 µCi trägerfreiem Natrium ^{125}J intraperitoneal
d) 48 Stunden nach der Radiojodgabe erste Blutentnahme von o,1 ml aus dem Plexus ophthalmicus, da nach dieser Zeit die ^{125}J Aktivität gleich der PBJ-Aktivität gesetzt werden kann. Messung der Radioaktivität: sogenannter Nullwert
e) unmittelbar nach der ersten Blutentnahme intravenöse Injektion (Schwanzvene nach Rotlichtbestrahlung) von o,5 ml des TSH-Präparates

f) zwei Stunden später zweite Blutentnahme und Messung der Radioaktivität

g) neun Stunden später 3. Blutentnahme mit anschließender Messung.

Eine Versuchsserie bestand aus folgenden Gruppen :

1. Eine Standardgruppe: Injektion von o,5 mU TSH
2. Eine Kontrollgruppe: Injektion von o,5 ml 1 % Mäusealbumin in o,9 % NaCL
3. Experimentelle Gruppe : Injektion der auszutestenden Substanz in o,5 ml o,9 % NaCl gelöst

Die Proben wurden in einem Gamma-Counter-Probenwechsler (Fa. Packard) bei einem Background von 5o - 8o Imp/min gemessen. Nach einer 1o-minütigen Messung betrug bei den Proben mit geringster Aktivität die durch die Messung bedingte relative SD $\pm$ 3 %.

Als Kriterium für die TSH Aktivität wurde die Differenz der Impulsrate der Zwei-Stunden-Probe von experimenteller Gruppe und Kontrollgruppe genommen.

Die statistische Auswertung erfolgte in Anlehnung an die von Guillemin und Sakiz angegebene Methode zur Analyse von biologischen Versuchen von TSH und LH (15) :

1. Umformung der Impulse/1o min. in ihre logarithmischen Werte
2. Covarianzanalyse - "adjusted data" (BMD-Programm 04V)
3. F-Test zur Berechnung von p
4. Antilogarithmen - adjusted counts per 1o minutes.

Die Berechnungen wurden mit einem IBM-Computer durchgeführt. Ich danke Dr. Hartmann (Schering AG) für die Durchführung der statistischen Arbeiten.

Die Anwesenheit von TSH in der Testsubstanz wurde als gegeben angenommen, wenn der 2-Std.-Wert der experimentellen Gruppe signifikant ($p < o,o5$) über dem einer Kontrollgruppe lag.

TSH-EXTRAKTION AUS SERUM

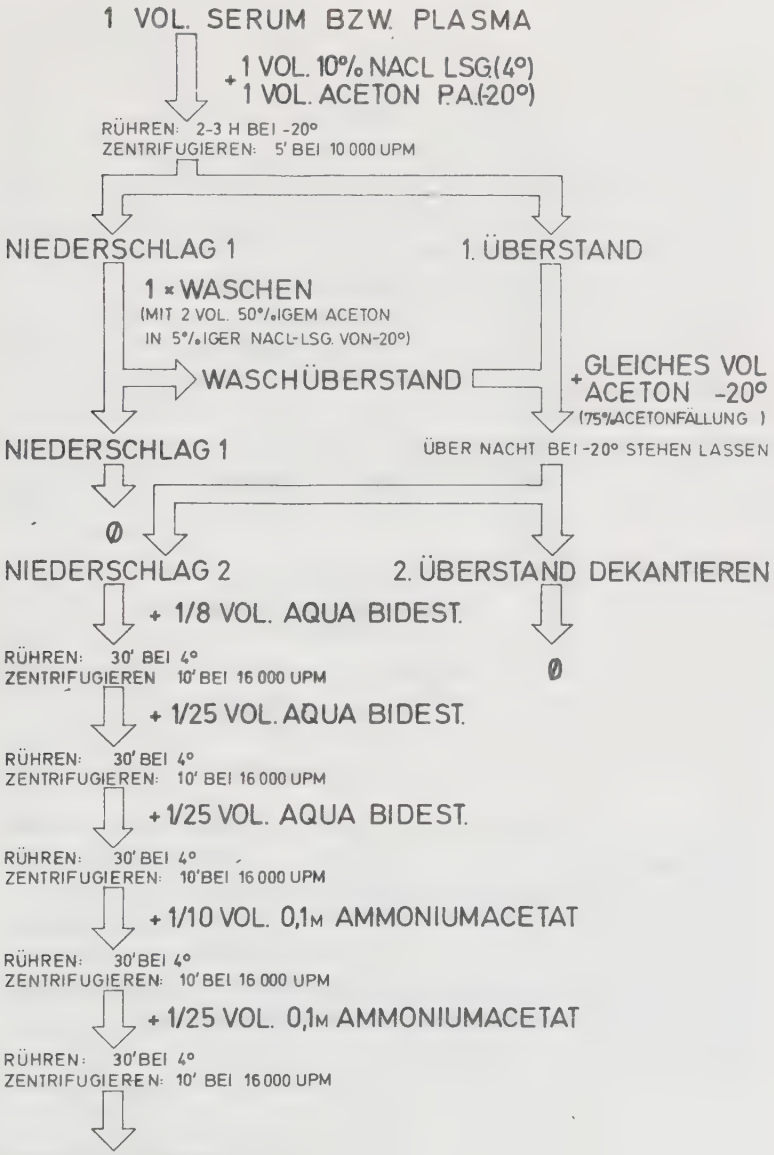


Abb. 1

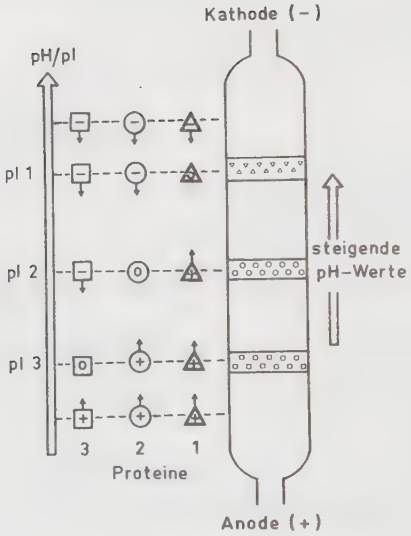


Abb. 2

Schema einer isoelektrischen Trennung von 3 Proteinen verschiedener isoelektrischer Punkte (pI 1, pI 2, pI 3). Gekennzeichnet in der Säule die dem pI der Proteine entsprechende Trägerampholytzone. Am pI sind die Proteine neutral (Nulladung). Auf der sauren Seite, anodenwärts der pI positive Ladung und kathodenwärts gerichtete Bewegung. Auf der basischen Seite des pI (negative Ladung) Bewegung anodenwärts. Die Wanderung ist durch Pfeile bezeichnet.

III. Ergebnisse

Vor der Injektion von TRH war TSH in keinem der vier Seren meßbar. Nach der Injektion von 5oo ug TRH fanden sich radioimmunologisch meßbare TSH-Spiegel bei 3 von den insgesamt 4 Versuchspersonen. Bei F. A. konnte weder in dem hier beschriebenen Versuch noch bei mehrfacher Wiederholung des TRH-Testes TSH im Nativ-Serum nachgewiesen werden (Tab. 1). Die TSH-Bestimmungen in den Extrakten zeigten jedoch auch bei dieser Versuchsperson eine normale Steigerung der TSH-Sekretionen nach Injektion von TRH an. Dieser scheinbare Widerspruch ist durch den Einfluß unspezifischer Serum-Faktoren auf die TSH-Bestimmung bedingt (s. Diskussion Seite 28). Aus den TSH-Werten des Nativ-Serums 3o Min. nach der Injektion von TRH und aus dem entsprechenden Serum-Extrakt läßt sich die "Recovery" nach Extraktion der TSH-Aktivität berechnen, die zwischen 3o und 4o % liegt.

Nach der elektrophoretischen Fraktionierung der Extrakte fand sich vor TRH-Injektion eine radioimmunologisch meßbare Aktivität von pH 3,o - 8,o, nach TRH von pH 3,o - 9,5. Nach TRH war in allen Fraktionen eine Steigerung der Aktivität nachweisbar, die spezifische Aktivität stieg am stärksten im pH-Bereich 6,o - 8,o an. Die geringe radioimmunologische TSH-Aktivität in alkalischer Elektrodenlösung war vor und nach Injektion von TRH gleich.

Nach Fraktionierung der Extrakte in der Sephadex-G-1oo-Säule ließ sich ebenfalls in allen Fraktionen TSH nachweisen. Der Hauptteil der Aktivität war jedoch auf einige wenige Fraktionen begrenzt (Tab. 4 - Abb. 6/7).

Nach Auftrennung der Rinder-Hypophysen-Extrakte mit der elektrofokusierenden Elektrophorese fand sich bei allen der insgesamt 5 Versuche eine biologische TSH-Aktivität in allen Fraktionen (Abb. 8).

Zeit in Minuten	TSH-Bestimmung in µU/ml im Plasma			
	Vers.-Pers. H. S.	Vers.-Pers. E. W.	Vers.-Pers. H. J.	Vers.-Pers. F. A.
0	Ø	Ø	Ø	Ø
++				
10	7,3	3,3	4,6	Ø
20	9,2	4,6	5,3	Ø
30	8,3	3,7	5,6	Ø
40	8,3	2,7	5,3	Ø
50	10,2	2,0	5,3	Ø

Tabelle 1

++ Injektion von 5 ml o,9 % NaCl mit 5oo µg TRH während 3 min

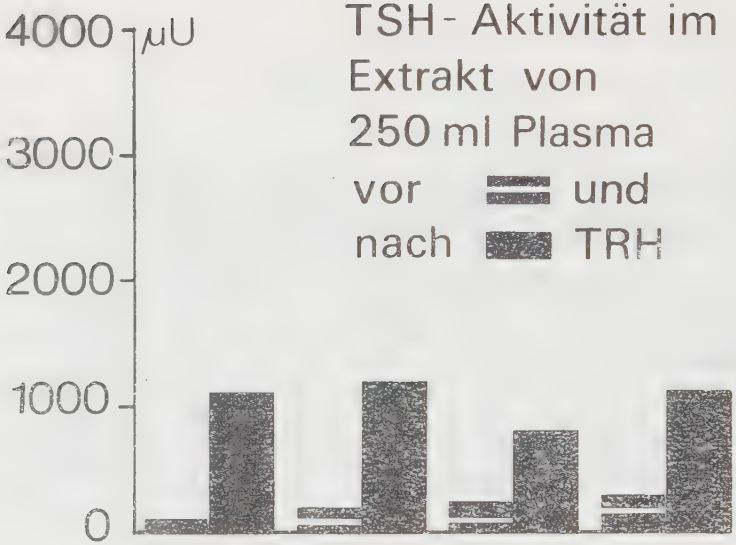
Ø < 1,5 µU/ml

Die Tabelle zeigt den Anstieg der TSH-Aktivität im Plasma nach Injektion von 5oo µg TRH. Der Ausgangswert war nicht meßbar. 1o Min. nach der TRH-Gabe war bei 3 Personen ein meßbarer Anstieg zu verzeichnen. Bei der Versuchsperson F.A. zeigte die Bestimmung im Nativplasma vor und nach Injektion keinen meßbaren Wert. (Erklärung s. Diskussion)

TSH-Aktivität im Extrakt	vor TRH		nach TRH	
	spez. Akt. µU/mg	ges. Akt. µU	spez. Akt. µU/mg	ges. Akt. µU
Vers.-P. F.A.	1,24	335	4,2	1300
Vers.-P. H.S.	0,46	125	3,2	1062
Vers.-P. E.W.	0,56	192	3,8	1089
Vers.-P. H.J.	0,71	215	1,9	803

Tabelle 2

Spezifische Aktivität in µU/mg und Gesamtaktivität in µU im TSH-Extrakt aus 25o ml menschlichem Plasma vor und nach Gabe von 5oo µg TRH.


4000
µU
3000
2000
1000
0
TSH- Aktivität im
Extrakt von
250 ml Plasma
vor und
nach TRH

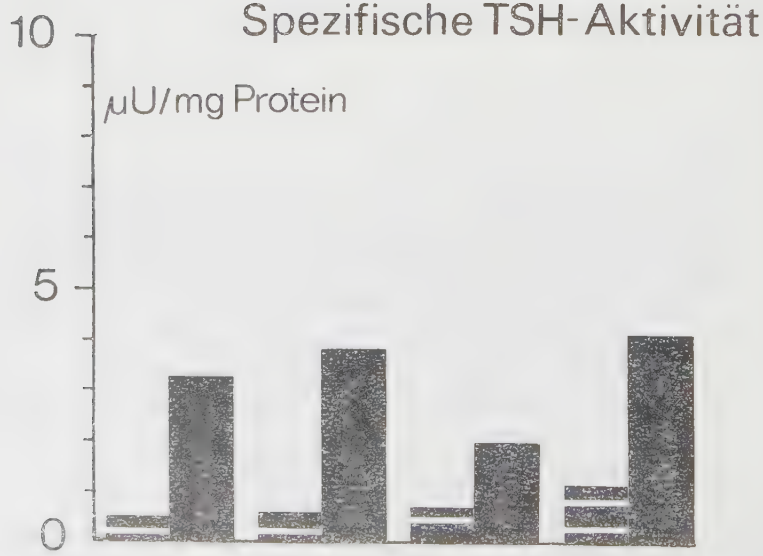
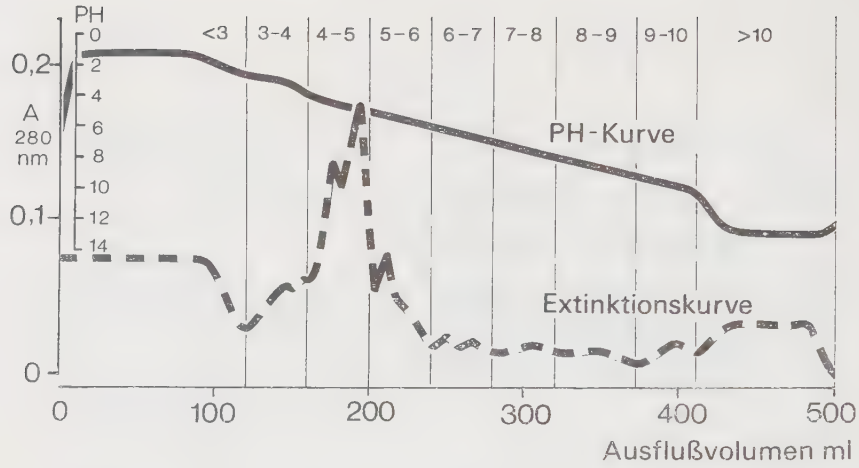
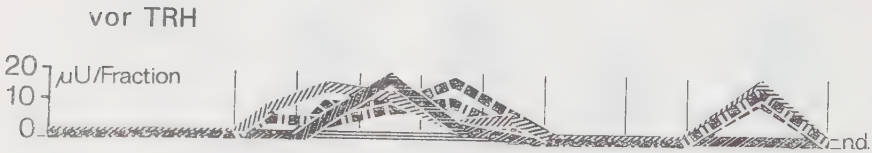

10
Spezifische TSH-Aktivität
µU/mg Protein
5
0

Abb. 3

Der obere Teil zeigt die TSH-Aktivität der Extrakte aus 250 ml Plasma vor und nach der Gabe von 500 µg TRH.

Der untere Teil gibt die spezifische Aktivität in µU/mg Protein wieder. Jedes Säulenpaar entspricht einer Versuchsperson. Die dazugehörigen Zahlenwerte sind der Tabelle 2 zu entnehmen.


PH
0
2
4
6
8
10
12
14
<3
3-4
4-5
5-6
6-7
7-8
8-9
9-10
>10
0,2
A
280
nm
0,1
0
PH-Kurve
Extinktionskurve
0
100
200
300
400
500
Ausflußvolumen ml


vor TRH
20
10
0
µU/Fraction
nd.

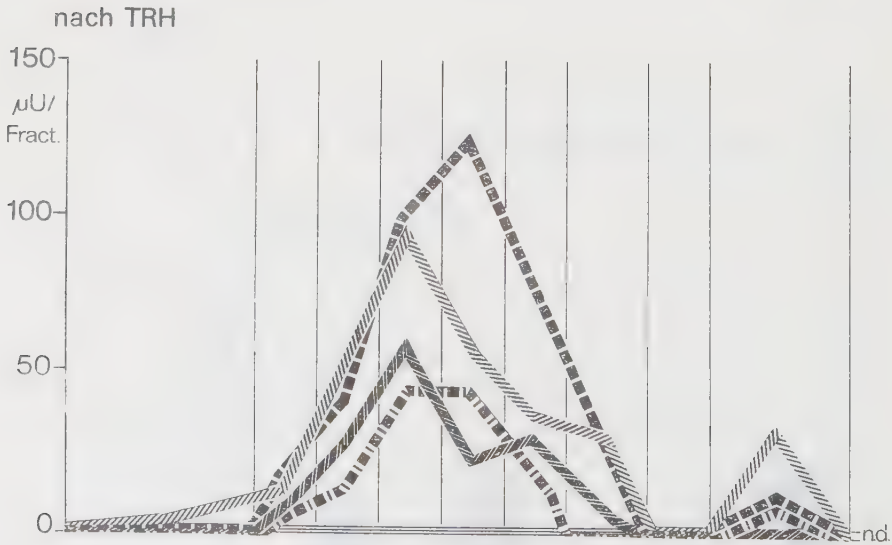

nach TRH
150
µU/
Fract.
100
50
0
nd.

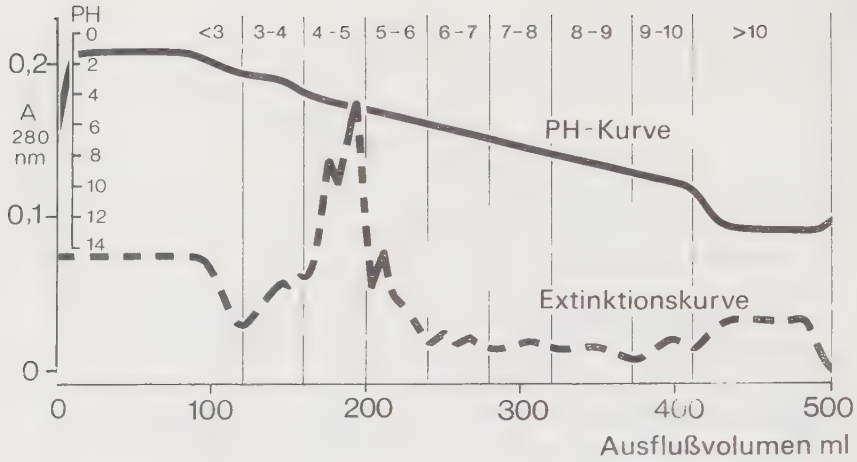
Abb. 4

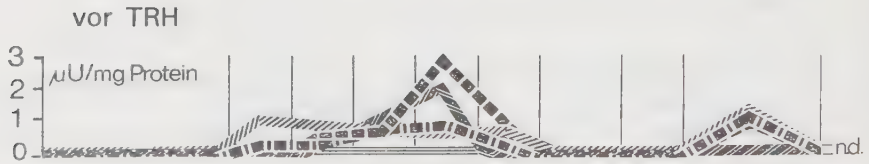
Verteilung der TSH-Aktivität in den einzelnen Fraktionen nach der elektrofokusierenden Elektrophorese.

Das obere Diagramm zeigt die während des Eluierens aufgezeichnete pH-Kurve sowie die gleichzeitig damit aufgenommene Extinktionskurve.

Die Elutionsdiagramme aller vier Versuchspersonen waren nahezu identisch. Immunelektrophoretisch konnte in den Fraktione. pH 3,o - 6,o Albumin und Transferrin nachgewiesen werden. Die beiden unteren Diagramme zeigen die TSH-Aktivität vor und nach TRH-Belastung.

Die TSH-Aktivität jeder Versuchsperson ist durch eine entsprechende Kurve dargestellt.


PH
0
2
4
6
8
10
12
14
<3
3-4
4-5
5-6
6-7
7-8
8-9
9-10
>10
0,2
A
280
nm
0,1
0
PH-Kurve
Extinktionskurve
0
100
200
300
400
500
Ausflußvolumen ml


vor TRH
3
2
1
0
µU/mg Protein
nd.

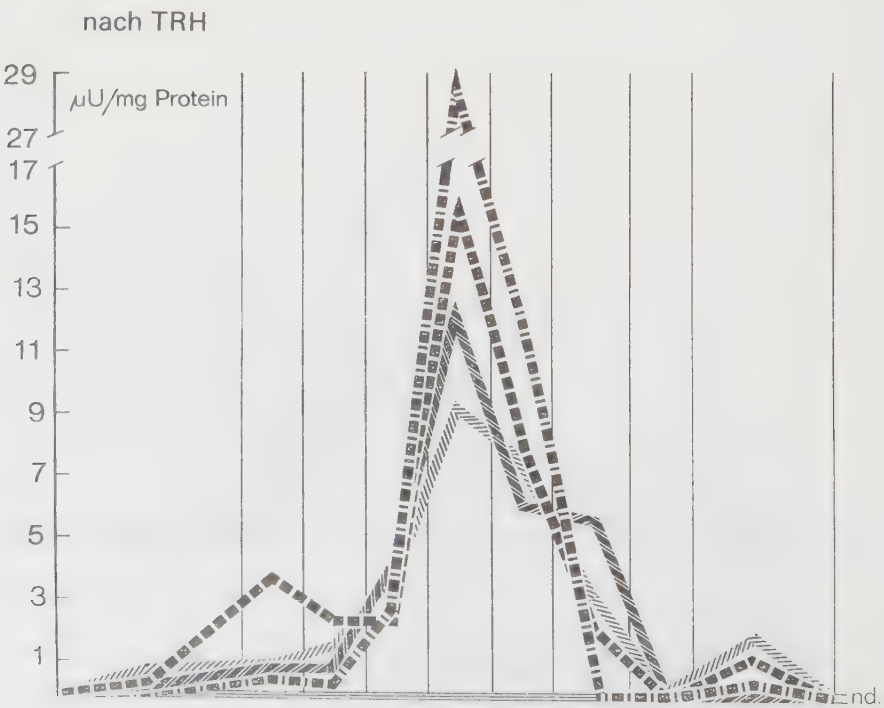

nach TRH
29
27
µU/mg Protein
17
15
13
11
9
7
5
3
1
nd.

Abb. 5

Verteilung der spezifischen TSH-Aktivität nach der elektrofokusierenden Elektrophorese.

Das obere Diagramm zeigt die während des Eluierens aufgenommene pH-Kurve sowie die gleichzeitig damit aufgezeichnete Extinktionskurve.

Die Diagramme aller vier Versuchspersonen waren nahezu identisch. Immunelektrophoretisch zeigte sich in den Fraktionen pH 3,o - 6,o Albumin und Transferrin.

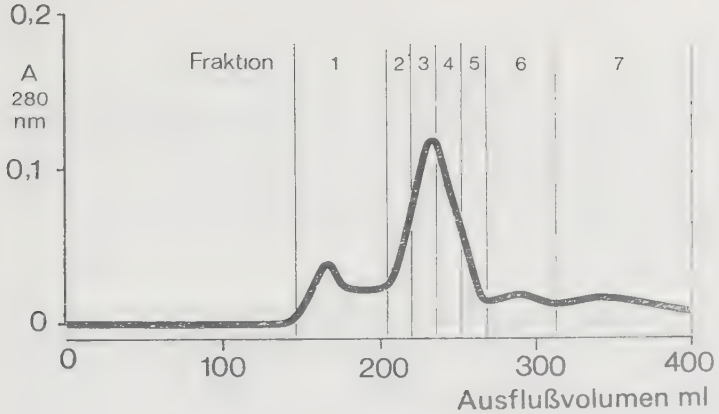
Die beiden unteren Abbildungen zeigen die spezifische TSH-Aktivität vor und nach TRH-Belastung. Die TSH-Aktivität jeder Versuchsperson ist durch eine entsprechende Kurve dargestellt. Die dazugehörigen Zahlenwerte sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

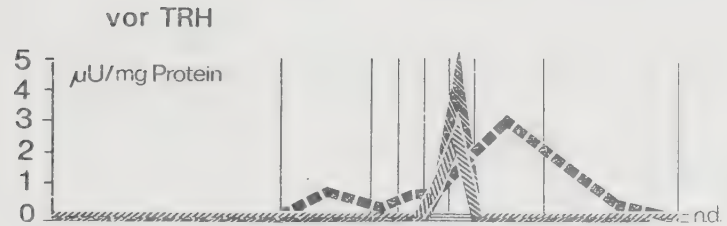
Fraktion und pH		Vers.-Pers. F. A.		Vers.-Pers. H. S.		Vers.-Pers. E. W.		Vers.-Pers. H. J.	
		sp.A. µU/mg	ges.A. µU	sp.A. µU/mg	ges.A. µU	sp.A. µU/mg	ges.A. µU	sp.A. µU/mg	ges.A. µU
vor TRH	1: 3	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	2: 3-4	0,2	3,0	Ø	Ø	0,81	8,5	Ø	Ø
	3: 4-5			0,31	8,7	0,7	14,7	0,17	6,0
	4: 5-6	0,78	7,0	0,63	10,1	0,53	11,9	0,67	18,3
	5: 6-7			2,87	17,2	0,4	3,0	2,0	3,0
	6: 7-8	Ø	Ø	0,74	7,4	0,47	4,9	Ø	Ø
	7: 8-9			Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	8: 9-10	0,75	4,5	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
	9: 10			0,73	13,1	1,3	17,6	Ø	Ø
nach TRH	1: 3	Ø	Ø	Ø	Ø	0,8	1,2	Ø	Ø
	2: 3-4	0,45	4,0	3,65	14,6	1,1	9,9	0,71	7,5
	3: 4-5	0,28	12,2	2,2	39,6	1,54	50,8	0,86	28,6
	4: 5-6	2,45	44,1	2,25	99,0	3,93	94,3	4,44	60,0
	5: 6-7	29,4	44,1	15,75	126,0	9,25	55,5	12,33	22,4
	6: 7-8	11,6	17,4	8,0	80,0	7,66	34,5	5,96	28,6
	7: 8-9	Ø	Ø	2,03	24,4	3,08	27,7	5,5	5,0
	8: 9-10	Ø	Ø	Ø	Ø			Ø	Ø
	9: 10	0,28	5,5	1,06	10,6	1,75	31,5	Ø	Ø

Tabelle 3

Ø < 1,5 µU/ml

Spezifische Aktivität in µU/mg Protein und Gesamtaktivität in µU pro Fraktion bei Auftrennung von jeweils 12o mg TSH-Extrakt aus menschlichem Plasma über die Elektrofokusiersäule.


0,2
A
280
nm
0,1
0
Fraktion
1
2
3
4
5
6
7
0
100
200
300
400
Ausflußvolumen ml


vor TRH
5
4
3
2
1
0
µU/mg Protein
nd.

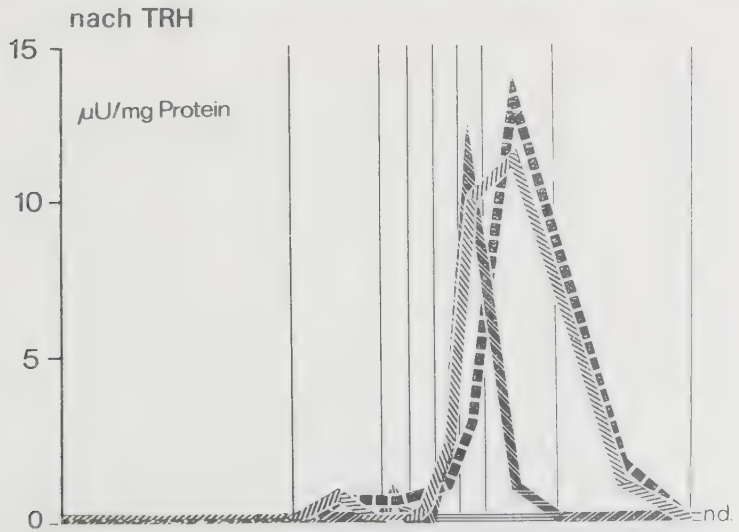

nach TRH
15
10
5
0
µU/mg Protein
nd.

Abb. 6

Säulenchromatographische Auftrennung von TSH-Extrakt aus menschlichem Plasma über Sephadex-G-1oo in PBS-Puffer pH 7,4. Säule 2,5 x 1oo cm.

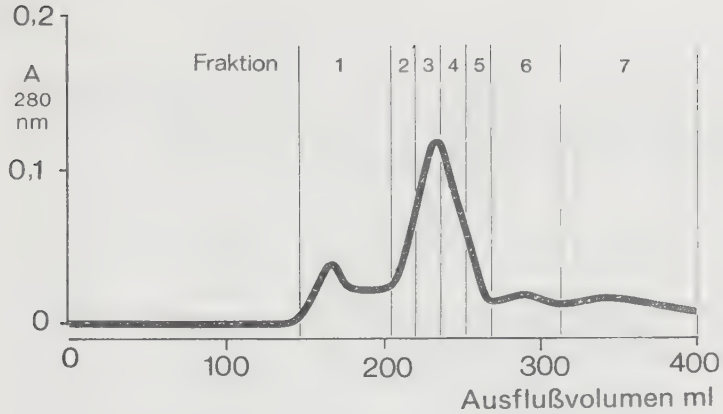
Das obere Diagramm zeigt die während des Eluierens aufgenommene Extinktionskurve.

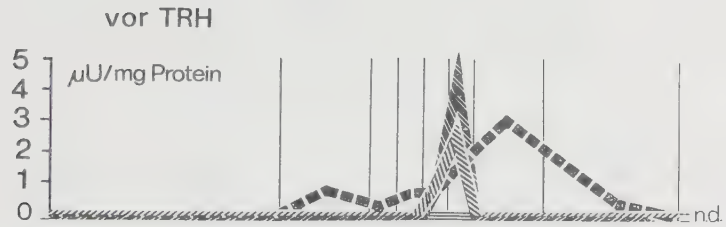
Die beiden unteren Abbildungen geben die TSH-Aktivität in den einzelnen Fraktionen vor und nach TRH-Belastung wieder.

Jede TSH-Aktivität einer Versuchsperson ist durch eine entsprechende Kurve dargestellt.

Die Elution wurde mit einem NaCl-Phosphat-Puffer (o,1 M NaCl, o,o5 M Phosphat, pH 7,4) als Elutionsmittel durchgeführt.

Die Durchflußgeschwindigkeit betrug 1o ml/h. Es wurden 7 Fraktionen aufgefangen.


0,2
A
280
nm
0,1
0
Fraktion
1
2
3
4
5
6
7
0
100
200
300
400
Ausflußvolumen ml


vor TRH
5
4
3
2
1
0
µU/mg Protein
nd

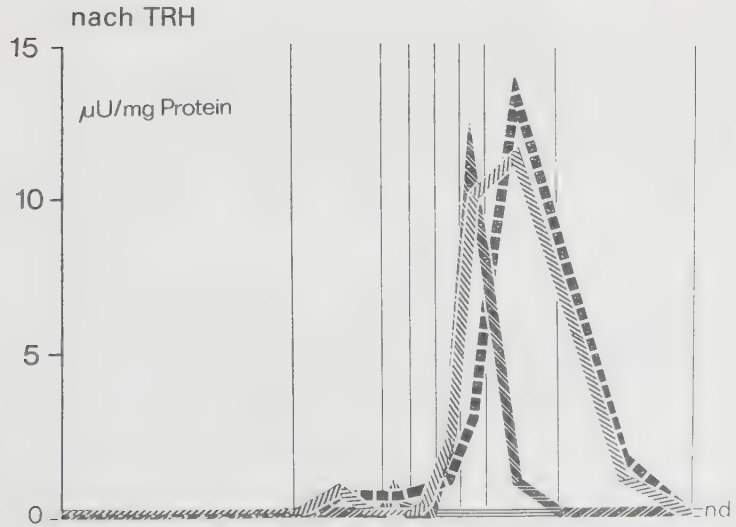

nach TRH
15
10
5
0
µU/mg Protein
nd

Abb. 7

Säulenchromatographische Auftrennung von TSH-Extrakt aus menschlichem Plasma über Sephadex-G-1oo in PBS-Puffer pH 7,4. Säule 2,5 x 1oo cm. Durchflußgeschwindigkeit1o ml/h.

Das obere Diagramm zeigt die während des Eluirens aufgenommene Extinktionskurve.

Die beiden unteren Abbildungen zeigen die spezifische TSH-Aktivität vor und nach TRH-Belastung.

Jede TSH-Aktivität einer Versuchsperson ist durch eine entsprechende Kurve dargestellt. Die dazugehörigen Zahlenwerte sind der Tabelle 4 zu entnehmen.

Fraktion		Vers.-Pers. H. S.		Vers.-Pers. E. W.		Vers.-Pers. H. J.	
		spez. A. µU/mg	ges. A. µU	spez. A. µU /mg	ges. A. µU	spez. A. µU /mg	ges. A. µU
vor TRH	1	0,72	4,3	Ø	Ø	Ø	Ø
	2	0,25	2,1	Ø	Ø	Ø	Ø
	3	0,61	9,0	Ø	Ø	Ø	Ø
	4	0,68	7,5	0,86	16,8	0,72	16,8
	5	1,45	12,9	2,65	15,9	5,0	24,8
	6	3,0	44,4	Ø	Ø	Ø	Ø
	7	0,5	7,3	Ø	Ø	Ø	Ø
nach TRH	1	0,58	3,4	0,63	8,5	Ø	Ø
	2	0,39	4,9	Ø	Ø	0,49	5,0
	3	0,54	10,3	0,2	3,6	Ø	Ø
	4	1,0	21,6	2,4	36,0	1,8	36,6
	5	2,82	37,5	10,0	90,0	12,1	148,5
	6	14,01	276,6	11,62	139,4	0,86	6,8
	7	1,58	27,7	1,04	10,9	Ø	Ø

Tabelle 4

Ø < 1,5 µU/ml

Spezifische Aktivität in µU/mg Protein und Gesamtaktivität in µU pro Fraktion bei Auftrennung von ca. 12o mg TSH-Extrakt aus menschlichem Plasma über Sephadex-G-1oo.

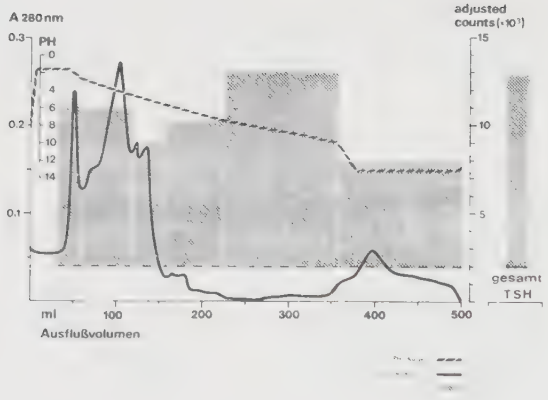


Abb.

Verteilung der TSH-Aktivität aus Rinderhypophysenextrakt in den durch die elektrofokusierende Elektrophorese gewonnenen Fraktionen. Die thyreotrope Aktivität wurde im McKenzie-Versuch getestet und die Ergebnisse als adjusted counts/1o min. ausgedrückt. Jedes Tier erhielt je 5 µg Substanz in o,5 ml o,9 % NaCl i.v. injiziert. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten o,5 ml o,9 % NaCl-Lösung. Der Anstieg in jeder Gruppe war signifikant (< o,o1). Verglichen wurden die 2-Std.-Werte der experimentellen mit denen der Kontrollgruppe. Außerdem erhielt eine Gruppe o,4 m U TSH/Tier injiziert.

IV. Diskussion

Die Pathogenese der endokrinen Ophthalmopathie ist ungeklärt. Schockaert (38) beobachtete 1932 bei Enten nach Injektion von Hypophysenvorderlappenextrakten das Auftreten von Schilddrüsenhyperplasie und Exophthalmus. Diese Beobachtung führte zur Annahme, daß das thyreotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens auch verantwortlich für die Pathogenese der endokrinen Ophthalmopathie beim Menschen sei.

Untersuchungen mehrerer Arbeitsgruppen zeigten jedoch, daß das Auftreten und der klinische Verlauf einer endokrinen Ophthalmopathie in keiner Weise mit der TSH-Aktivität im Serum korrelierte. Insbesondere radioimmunologische Messungen der TSH-Aktivität zeigten, daß allein die Schilddrüsenaktivität in Hypophyse und Serum die TSH-Aktivität bestimmte:
So ist z.B. bei allen Formen der Schilddrüsenüberfunktion der TSH-Gehalt der Hypophyse stark herabgesetzt und TSH im Serum meistens nicht nachweisbar (29, 33, 35, 45). Bei Patienten mit aktiver endokriner Ophthalmopathie kommt es auch nach Injektionen von Thyreotropin Releasing-Hormon zu keinem meßbaren Anstieg der TSH-Aktivität. Dieser - bei Normalpersonen - regelmäßig zu beobachtende Anstieg bleibt auch dann aus, wenn der Patient mit der endokrinen Ophthalmopathie klinisch "euthyreot" ist. Dieser Befund eines negativen Thyreotropin Releasing-Hormontestes auch bei euthyreoter endokriner Ophthalmopathie wird dadurch erklärt, daß bei diesen klinisch euthyreoten Patienten der Trijodthyronin-Spiegel im Gegensatz zu dem Thyroxin-Spiegel erhöht ist (17). Das thyreotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens kann also nicht Ursache der endokrinen Ophthalmopathie sein. Mehrere Arbeitsgruppen versuchten daher aus dem Hypophysenvorderlappenextrakt eine von TSH differente exophthalmogene Aktivität zu isolieren :
Jefferies berichtete 1949, daß nach Jodierung von Hypophysenvorderlappenextrakten die exophthalmogene und lipolytische Aktivität zerstört wurde, die thyreotrope Aktivität jedoch erhalten blieb (17). Dobyns et al. beschrieben eine verschiedenartige Löslichkeit von TSH und EPF-Aktivität in Trichloressigsäure (10).

Wegelius fand nach Inkubation von Hypophysenvorderlappenextrakt mit Pepsin eine Zerstörung der TSH-Aktivität, jedoch nicht eine Zerstörung der EPF-Aktivität (48). Brunish et al. (6) und Condliffe und seine Mitarbeiter (7) beschrieben eine Trennung von TSH und EPF-Aktivität durch Ionenaustauscher-Chromatographie.

Basierend auf diesen Befunden entwickelte Horster folgende Modellvorstellungen für die Pathogenese der Ophthalmopathie (16) :
Der exophthalmogene Faktor des Hypophysenvorderlappen ist eine Vorstufe der glandotropen Hormone und wird nur bei überstürzter Sekretion der Hormone (z.B. bei Akromegalie oder bei Stress) sezerniert und führt zu den für die endokrine Ophthalmopathie typischen Veränderungen. Gegen diese Theorie können sicher eine Reihe von Einwendungen erhoben werden, z.B. führt die vermehrte ACTH-Sekretion bei primärer Nebennierenrindeninsuffizienz nie zu der Ausbildung einer Ophthalmopathie.

Unabhängig von solchen Gesichtspunkten wird in neuerer Zeit die Existenz eines für die menschliche Ophthalmopathie relevanten exophthalmogenen Faktors des Hypophysenvorderlappens wieder in Zweifel gezogen, da verschiedenen Arbeitsgruppen eine Trennung von TSH und EPF-Aktivität nicht möglich war:
Dedman et al. scheiterten bei dem Versuch, die o.g. experimentellen Ergebnisse zu reproduzieren (8).
Winand und Kohn fanden nach der discelektrophoretischen Auftrennung von Hypophysenvorderlappenextrakten mehrere Fraktionen, die gleichzeitig TSH und exophthalmogene Aktivität (im Goldfischversuch) besaßen. Nach Inkubation einer Fraktion des Vorderlappenextraktes mit Pepsin kam es zu einem weitgehenden Verlust der TSH-Aktivität, jedoch nicht der EPF-Aktivität. Diese Autoren diskutieren die Möglichkeit, daß dieselben Glycoproteine determinante Gruppen für die thyreotrope und die exophthalmogene Aktivität besitzen. Durch bestimmte Maßnahmen, wie z.B. durch die Inkubation mit Pepsin , könnte selektiv eine biologische Aktivität an dem Molekül zerstört werden (49/50).

Wir versuchten, diese Frage einer Trennbarkeit der Aktivität mit der elektrofocusierenden Elektrophorese zu klären. Es wurde zunächst versucht, eine Trennung der TSH-Aktivität im menschlichen Plasma zu erreichen. Wegen der geringen Aktivität wurden jedoch TSH-Extrakte hergestellt.

Die Injektion von TRH führte bei allen 4 Versuchspersonen zu dem erwarteten Anstieg der TSH-Aktivität (Tab. 1). Bei F.A. war dieser Anstieg nur im Extrakt, nicht im Plasma nachweisbar. Untersuchungen von Adams und Kennedy (2) und Hall (16) zeigen, daß unspezifische Serumstörfaktoren falsch-hohe oder falsch-niedrige TSH-Meßwerte vortäuschen können. Die Störfaktoren - die wahrscheinlich zu den Gamma-Globulinen gehören - beeinflussen entweder die Bindung des markierten HTSH an den spezifischen Antikörper oder die Reaktion des 1. und 2. Antikörpers bei der Trennung des gebundenen und des freien HTSH (4o). Der Ansatz der Standard-Kurve in einem TSH-freien Serum statt in Puffer neutralisiert diese Fehlerquellen in den meisten Fällen (16). In einzelnen Fällen kann es jedoch trotzdem zu Fehlbestimmungen kommen. So wurden in unserer Arbeitsgruppe 2 euthyreote Patienten mit chronischer Hepatitis beobachtet, die extrem hohe TSH-Aktivitäten von 3o - 35 µU/ml Serum hatten. Die Aktivität konnte durch Schilddrüsenhormone nicht supprimiert werden, konnte also nicht einer echten TSH-Aktivität entsprechen. Die Extraktionen der TSH-Aktivität mit der von Adams und Kennedy beschriebenen Methode eliminiert diese Störfaktoren und scheint geeignet zu sein, aus größeren Plasma-Volumina TSH in einer relativ konstanten Recovery zu extrahieren (Tab. 2, Abb. 3).

Die Auftrennung der TSH-Extrakte mit der elektrofokusierenden Elektrophorese und mit der Sephadexchromatographie zeigte konstant eine breite Verteilung der Aktivität. Die Spezifität dieser Aktivität wird dadurch bewiesen, daß es nach TRH konstant in fast allen Fraktionen zu einem deutlichen Anstieg des TSH-Spiegels kam.

Radioimmunologische und biologische Aktivität müssen nicht identisch sein. Eine Bestimmung der biologischen Aktivität, der TSH-Aktivität im Serum, Serumextrakten und in den Fraktionen aus menschlichem Plasma wäre wünschenswert gewesen. Die Bestimmungen der biologischen TSH-Aktivität sind wegen der begrenzten Empfindlichkeit der zur Verfügung stehenden Nachweisverfahren - z.B. des McKenzie-Versuches - nicht durchführbar, die Aufarbeitung der TSH-Aktivität aus menschlichen Hypophysen war aus technischen Gründen nicht möglich. Für biologische TSH-Bestimmungen mußte daher auf ein kommerziell erhältliches TSH - Präparat aus Rinderhypophysen (Thyreostimulin/Organon) zurückgegriffen werden.

Auch in diesen Versuchen ergab sich eine breite Verteilung der thyreotropen Aktivität. Rechromatographieversuche mit Einzelfraktionen zeigten hier allerdings, daß die Aktivität nicht streng auf den ursprünglichen pH-Bereich beschränkt war (37). Auch der Nachweis von Aktivität in den Elektrodenlösungen spricht für das Vorliegen von Artefakten. Die Gründe für dieses "Schmieren" der Aktivität konnten nicht eruiert werden. Es muß daran gedacht werden, daß die Ampholine mit TSH-Molekülen Verbindungen eingehen und zuletzt dann zu einem "fremden" pH-Bereich transportiert werden. Eine Interpretation der Versuche mit der elektrofokusierenden Elektrophorese ist daher nur mit Einschränkung möglich. Sie lassen jedoch trotzdem die Folgerung zu, daß auch nach dieser Methode eine Heterogenität der radioimmunologischen und biologischen thyreotropen Aktivität nachweisbar ist.

Bei der breitgestreuten Verteilung der thyreotropen Aktivität erschien es unwahrscheinlich, daß mit Hilfe dieser Technik eine Trennung der schilddrüsenstimulierenden, exophthalmogenen und lipolytischen Aktivität des TSH-Extraktes auch nur annähernd zu erreichen ist. Trotzdem wurden Proben der auf ihre thyreotrope Aktivität hin getesteten Fraktionen zu Herrn Dr. Loos, Dr. Rothenbuchner und Dr. Faulhaber (Universitätsklinik Ulm) geschickt. Die dort durchgeführten Bestimmungen der exophthalmogenen und lipolytischen Aktivität zeigten jedoch ebenfalls eine fast gleichmäßige Verteilung dieser biologischen Aktivitäten (persönliche Mitteilungen).

Die vorliegenden Befunde sprechen daher wie auch die Ergebnisse anderer Arbeitsgruppen für die Theorie, daß die schilddrüsenstimulierende, die lipolytische und die exophthalmogene Aktivität des Hypophysenvorderlappens an verschiedene Determinanten derselben Proteinmoleküle gebunden sind (12, 14, 41). Die physiologische Bedeutung der exophthalmogenen und lipolytischen Aktivität von Hypophysenvorderlappenextrakten für den Menschen bliebe außerdem auch nach einer gelungenen Trennung der 3 Aktivitäten zweifelhaft, da z. B. noch nie eine Identität der exophthalmogenen Aktivität im Serum von Patienten mit endokriner Ophthalmopathie mit der von Hypophysenextrakten nachgewiesen worden ist.

In den letzten Jahren wurde vor allem die Rolle des Long-Acting-Thyroid-Stimulator (LATS) diskutiert. LATS ist ein Immun-Globulin G (27), das möglicherweise ein Autoantikörper gegen ein in der Schilddrüse lokalisiertes Antigen darstellt.
LATS wurde bisher nur im Serum von Basedow-Patienten nachgewiesen und stimuliert neben der Schilddrüse des Menschen auch die Schilddrüse anderer Säugetiere (3, 13, 34, 39).
Einige Arbeitsgruppen beschrieben ein besonders häufiges Vorkommen von LATS bei Basedow-Patienten mit endokriner Ophthalmopathie und prätibialem Myxödem (5, 9, 28, 34).
Vor allem dieser Befund führte zu der Theorie, daß LATS nicht nur für die Hyperthyreose, sondern auch für die Ophthalmopathie beim Morbus Basedow verantwortlich sei. Andere in der Literatur mitgeteilte Ergebnisse lassen jedoch eine feste Beziehung zwischen LATS-Aktivität und Ophthalmopathie vermissen: Bei Verlaufsbeobachtungen schien der Nachweis von LATS unabhängig davon zu sein, ob während der Behandlung eine Ophthalmopathie neu auftrat, bestehen blieb oder sich zurückbildete (19, 23).
Die bisherigen widersprüchlichen Befunde lassen keine Aussage über die Rolle des LATS bei der Pathogenese der endokrinen Ophthalmopathie zu. Der Beweis für eine pathogenetische Rolle des LATS bei diesem Krankheitsbild könnte bedeuten, daß auch die endokrine Ophthalmopathie zum Formenkreis der Autoimmun-Erkrankung gehört (25).

Einige Befunde sprechen tatsächlich dafür, daß bei der Entstehung der Ophthalmopathie immunologische Vorgänge eine Rolle spielen :
Im Retro-Bulbär-Raum der Patienten finden sich lymphozytäre und plasmazelluläre Infiltrationen (4, 48), im Serum der Patienten sind auffällig häufig Autoantikörper gegen Schilddrüsen- und Parietalzellen der Magenschleimheit nachweisbar (16). In neuerer Zeit beschrieben einige Arbeitsgruppen eine exophthalmogene Aktivität im IGG von Basedow-Patienten, die jedoch nicht mit der LATS-Aktivität dieser Patienten identisch war (39, 51). Dennoch kann die vor allem von McKenzie zur Diskussion gestellte These, daß es sich bei der endokrinen Ophthalmopathie um eine eigenständige Autoimmun-Erkrankung handelt, anhand dieser spärlichen Befunde in keiner Weise als gesichert gelten (25).

Zusammenfassung

Die Injektion von TRH führte bei 3 von 4 Versuchspersonen zu einem Anstieg der TSH-Aktivität im Plasma. Unspezifische Serumstörfaktoren werden bei der Extraktion der TSH-Aktivität nach der von Adams und Kennedy beschriebenen Methode eliminiert. Eine relativ konstante Recovery ist nach dieser Extraktionsmethode möglich. Die Auftrennung der TSH-Extrakte mit der elektrofokusierenden Elektrophorese und mit der Sephadexchromatographie zeigte konstant eine breite Verteilung der Aktivität.

Für biologische TSH-Bestimmungen mußten wir auf ein kommerziell erhältliches TSH-Präparat aus Rinderhypophysen zurückgreifen, da aus technischen Gründen die Aufarbeitung der TSH-Aktivität aus menschlichen Hypophysen nicht möglich war. Auch in diesen Versuchen ergab sich eine breite Verteilung der thyreotropen Aktivität. Entsprechende Ergebnisse fanden sich bei der Bestimmung der exophthalmogenen und lipolytischen Aktivität.

Unsere Befunde lassen die Folgerung zu, daß auch nach dieser Methode eine Heterogenität der radioimmunologischen und biologischen thyreotropen Aktivität nachweisbar ist. Die schilddrüsenstimulierende, die lipolytische und die exophthalmogene Aktivität des Hypophysenvorderlappens scheinen an verschiedene Determinanten derselben Proteinmoleküle gebunden zu sein.

V. Schrifttum

1. ADAMS, D. D.
A Comparison of the Rates at Which Thyrotrophin and the Human Abnormal Thyroid Stimulator Disappear from the Circulating Blood of the Rat.
Endocrinology 66, 658 - 664 (1960)

2. ADAMS, D. D., T.H. KENNEDY, R. UTIGER
Comparison of Bioassay and Immunoassay Measurments of Serum Thyrotrophin (TSH) and Study of TSH Levels by Immunoassay of Serum Concentrates
J. Clin. Endocr. Metab., 34, 1074 (1972)

3. ARNAUD, C. D., H. A. KNEUBUHLER, V. L. SEILING, B. K. WIGHTMAN, N. H. ENGBRING
Responses of the Normal Human to Infusions of Plasma from Patients with Graves'Disease
J. Clin. Invest., 44, 1287 - 94 (1965)

4. ASBOE-HANSEN, G., K. IVERSEN, R. WICHMAN
Malignant Exophthalmos: Muscular Changes and Thyrotrophin Content in Serum
Acta Endocr., 11, 376 - 399 (1952)

5. BENOIT, F. L., r. S. GREENSPAN
Corticoid Therapy for Pretibial Myxedema. Observations on the Long-Acting-Thyroid-Stimulator
Ann. Intern. Med., 66, 711 - 20 (1967)

6. BRUNISH, R., K. HAYASHI, J. HAYASHI
Purification and Properties of Exophthalmos-Producing-Substance
Arch. Biochem. Biophys., 98, 135 - 41 (1962)

7. CONDLIFFE, P.G.
Purification of Human Thyrotrophin
Endocrinology 72, 893 - 896 (1963)

8. DEDMAN, M. L., J. S. FAWCETT, C. J. O. R. MORRIS
The Exophthalmogenic Activity of Bovine Thyrotrophic Preparations
J. Endocr., 39, 197 - 205 (1967)

9. DER KINDEREN, P. J.

EPS, LATS and Exopthalmos
In: Thyrotoxicosis
Herausgeber: W. J. Irvine,
Livingstone-Edinburgh
London 1967, S. 221 - 237

10. DOBYNS, B. M.,
S. L. STEELMAN

The Thyroid Stimulating Hormone of the Anterior Pituitary as Distinct from the Exophthalmos Producing Substance

Endocrinology, 52, 705 - 711 (1953)

11. DOBYNS, B. M.,
L. A. WILSON

An Exophthalmos-Producing Substance in the Serum of Patients Suffering from Progressive Exophthalmos

J. Clin. Endocr., 14, 1393 - 1402 (1954)

12. FAWCETT, J. S.,
M. L. DEDMAN,
C. J. O. R. MORRIS

The Isolation of Bovine Thyrotrophins by Isoelectric Focussing

Febs Letters Vol 3/No 4, S. 250-52

13. FIELD, J. B.,
A. REMER,
G. BLOOM,
J. P. KRISS

In Vitro Stimulation by Long-Acting-Thyroid Stimulator of Thyroid Glucose Oxidation and ^{32}PIncorporation into Phospholipids

J. Clin. Invest., 47, 1553 - 60 (1968)

14. GREENWOOD, F. C.,
W. M. HUNTER,
J. S. GLOVER

The Preparation of ^{131} -Labelled Human Growth Hormone of High Specific Radioactivity

Biochem. J. 89, 114 (1963)

15. GUILLEMIN, R.,
E. Sakiz

On a Methode for Calculation and Analysis of Results in the McKenzie Assay for Thyrotrophin (TSH)

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 115, 856 (1964)

16. HALL, R.,
K. KIRKHAM,
D. DONIACH,
D. ELKABIR

Ophthalmic Graves'Disease Diagnosis and Pathogenesis

Lancet 1, 375 (1970)

17. HESCH, R. D.,
A. v. zur MÜHLEN,
M. HÜFNER,
J. KÖBBERLING

The Hypertriiodothyroninemia

Acta Endocr. KbH Suppl. 177
S. 209 (1973)

18. HORSTER, F. A. — Endokrine Ophthalmopathie : In : Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik, 2o, Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1967

19. HORSTER, F. A., H. SCHLEUSENER, K. SCHIMMELPFENNIG — Neue Befunde zur Pathogenese der Basedow'schen Krankheit Dtsch. Med. Wschr. 92, S. 661 (1967)

2o. HOWARD, S. M., J. G. PIERCE — The Tryptic Glycopeptides of Bovine Thyrotrophin J. of Biol. Chem., 244, 23 S. 6468 (1969)

21. JEFFERIES, W. McK. — Studies of the Relationship of the Thyrotropic, Exophthalmic and Fat-Mobilizing Principles of Pituitary Extract J. Clin. Endocr., 9, 913 - 35 (1949)

22. McKENZIE, J. M. — The Bioassay of Thyrotrophin in Serum Endocrinology 63, 372 - 82 (1958)

23. McKENZIE, J. M., E. P. McCULLAGH — Observations Against a Causal Relationship Between the Long-Acting Thyroid Stimulator and Ophthalmopathy in Graves'Disease J. Clin. Endocr., 28, 1177 (1968)

24. McKENZIE, J. M. — Humoral Factors in the Pathogenesis of Graves'Disease Phys. Rev., 48, 244 - 252 (1968)

25. McKENZIE, J. M. — Zur Pathogenese der Hyperthyreose Triangel 9, 2 - 3 (1969)

26. KRASS, M. E., F. S. LABELLA, R. MAILLOT — Bovine Thyrotrophin: Molecular Weight of the Hormone Derived from Soluble and Granular Pituitary Fractins, and Preparation of an Active Fragment by Enzyme Hydrolysis Endocrinology 84, 1257 (1969)

27. KRISS, J. P.,
V. PLESHAKOV,
J. R. CHIEN

Isolation and Identification of the Long-Acting Thyroid Stimulator and Its Relation to Hyperthyroidism and Circumscribed Pretibial Myxedema

J. Clin. Endocr., 24, 1005 (1964)

28. KRISS, J. P.,
V. PLESHAKOV,
A. L. ROSENBLUM
M. HOLDERNESS,
G. SHARP,
R. UTIGER

Studies on the Pathogenesis of the Ophthalmopathy of Graves'Disease

J. Clin. Endocr., 27, 582 - 93 (1967)

29. KUMAHARA, Y.,
H. IWATSUBO,
K. MIAY, M. MASUI,
M. FUKUCHI, H. ABE

Abnormal Thyrotropic Substance in the Pituitaries of Patients with Graves'Disease

J. Clin. Endocr. 27, 333 - 340 (1967)

30. LIAO, T.,
G. HENNEN, S. M. HOWARD,
J. G. PIERCE, B. SHOME

Bovine Thyrotrophin

J. Biol. Chem., 244, 23 S. 6458-66 (1969)

31. LIAO, T.,
J. G. PIERCE

The Presence of a Common Type of Subunit in Bovine Thyroid-Stimulating and Luteinizing Hormones

J. Biol. Chem. 243, 13 S. 3275 - 81 (1970)

32. MUNRO, R. E.,
L. LAMKI,
V. V. ROW, R. VOLPE

Cell-Mediated Immunity in the Exophthalmos of Graves'Disease as Demonstrated by the Migration Inhibition Factor (MIF) Test

J. Clin. Endocr. Metab. 37, 286 (1973)

33. MURRAY, S.,
S. EZRIN

Effect of Graves'Disease on the "Thyrotroph" of the Adenohypophysis

J. Clin. Endocr., 26, 287 (1966)

34. PINCHERA, A.,
M. G. PINCHERA,
J. B. STANBURY

Thyrotrophin and Long-Acting Thyroid Stimulator Assays in Thyroid Disease

J. Clin. Endocr. , 25, 189 (1965)

35. RACADOT, J.,
F. PEILLON,
J. SEBAOUN,
GILBERT-DREYFUS

Regressive Aspect of Thyrotrophin (TSH) Pituitary Cells in Graves' Disease, in: Cassano and Andreoli: Current Topics in Thyroid Research, Academic Press New-York - London 1965, S. 593 - 595

36. REIS, H. E., O. WETTER
Die isoelektrische Trennung in der Proteinchemie
Klin. Wochenschrift 48, Heft 1? (1970)

37. SCHLEUSENER, H. F. ADLKOFER
Persönliche Mitteilungen

38. SCHOCKAERT, J. A.
Hyperplasia of Thyroid and Exophthalmos from Treatment with Anterior Pituitary in Young Ducks
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 29, 306 - 308 (1931/32)

39. SCOTT, T. W., B. F. GOOD, K. A. FERGUSON
Comparative Efeects of Long-Acting Thyroid Stimulator and Pituitary Thyrotrophin on the Intermediate Metabolism of Thyroid Tissue in Vitro
Endocrinology 79, 949 - 54 (1966)

40. SLUITER, W. J., F. v. KESEN, H. BECKHINS
A Radioimmunoassay of Human TSH, Employing a Solid Phase Second Antibody, and a Purified Globulin Preparation for Standardization of Non-specific Protein Interactions
Clin. Chim. Acta 42, 255 (1972)

41. STOCKELL-HARTREE, A. M. THOMAS, B. E. FURNIVAL, T. W. BURNS, P. LANGLEY
Thyroid Stimulating and Lipolytic Activities of Purified Preparations of Human Thyroid Stimulating Hormone
J. Endocr., 55, 95 - 100 (1972)

42. SVENSSON, H.
Isoelectric Fractionation, Analysis and Characterization of Ampholytes in Natural pH Gradients
1) The Differential Equation of Solute Concentrations at a Steady State and its Solution for Simple Cases
Acta Chem. Scand., 15, 325 - 341 (1961)

43. SVENSSON, H.
Isoelectric Fractionation, Analysis and Characterization of Ampholytes in Natural pH Gradients
2) Buffering Capacity and Conductance of Isoionic Ampholytes
Acta Chem. Scand. 16, 456 - 466 (1962)

44. SVENSSON, H. — Isoelectric Fractionation, Analysis and Characterization of Ampholytes in Natural pH Gradients
3. Description of Apparatur for Electrolysis in Columns Stabilized by Density Gradients and Direct Determination of Isoelectric Points
Arch. Biochem. Biophys. Suppl. 1, 132 - 138 (1962)

45. UTIGER, R. D. — Radioimmunoassay of Human Plasma Thyrotropin
J. Clin. Invest, 44, 1277 - 86 (1965)

46. VESTERBERG, O., H. SVENSSON — Isoelectric Fractionation, Analysis and Characterization of Ampholytes in Natural pH Gradients
4. Further Studies on the Resolving Power in Connection with Separation of Myoglobins
Acta Chem. Scand., 2o, 82o (1966)

47. VESTERBERG, O. — Isoelectric Fractionation, Analysis and Characterization of Ampholytes in Natural pH Gradients
5. Separation of Myoglobins and Studies on their Elextro-Chemical Differences
Acta Chem. Scand., 21, 2o6 (1967)

48. WEGELIUS, O., G. ASBOE-HANSEN, B. A. LAMBERG — Retrobulbar Connective Tissue Changes in Malignant Exophthalmos
Acta Endocr., 25, 452 - 56 (1957)

49. WINAND, R. J., L. KOHN — Relationship of Thyrotrophin to Exophthalmic-Producing Substance
J. Biol. Chem., 245, 5 (197o)

5o. WINAND, R. J., L. KOHN — Relationship of Thyrotrophin to Exophthalmic-Producing Substance
J. Biol. Chem., 246, 21 (1971)

51. WINAND, R. J., J. SALMON, P. H. LAMBERT — Characterization of the Exophthalmogenic Factor Isolated from the Serum of Patients with Malignant Exophthalmos
In: Further Advances in Thyroid Research, Band 1 (1971), Verlag der Wiener Medizinischen Akademie Herausgeber: K. Fellinger u. R. Höfer
S. 583

Herrn Prof. Dr. med. H. S C H L E U S E N E R
danke ich für die Überlassung des Themas und
die zahlreichen Hilfen während der Entstehung
dieser Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 7. 6. 1944 wurde ich in Litzmannstadt als Sohn des damaligen Hauptmanns Heinrich Jürgens und seiner Ehefrau Ursula, geb. Köppen, geboren.
1951 wurde ich in Lunden (Schleswig-Holstein) eingeschult und besuchte dann von 1955 bis 1964 die Gymnasien in Husum und Heide. In Heide legte ich 1964 das Abitur ab und verpflichtete mich anschließend für drei Jahre bei der Bundeswehr. 1967 schied ich als Leutnant aus und begann im April mein Medizinstudium in Berlin. Hier bestand ich 1968 das Vorphysikum, 1969 das Physikum und examinierte im Februar 1973.
Als Medizinalassistent habe ich 4 Monate auf der Chirurgie im Städt. Krankenhaus Moabit gearbeitet und bin hier zur Zeit auf der II. Inneren tätig.
Mit dem Stoff der vorliegenden Arbeit befasse ich mich seit 1969.

B. Ladewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3 12 88 85 - 3 13 61 98